

⑨ 日本国特許庁 (JP) ⑪ 特許出願公開
⑫ 公開特許公報 (A) 昭57-208457

⑩ Int. Cl.³
G 01 N 33/48
1/28

識別記号 庁内整理番号
6422-2G
6430-2G

⑬ 公開 昭和57年(1982)12月21日
発明の数 2
審査請求 未請求

(全 7 頁)

④自動染色装置

②特 願 昭56-94140
②出 願 昭56(1981)6月18日
②發明者 井沢正雄
八王子市中野町2540

⑦發明者 立川幸子
八王子市並木町24-16吟風荘
⑦出願人 オリンパス光学工業株式会社
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番
2号
⑧代理人 弁理士 奈良武

明細書

1. 発明の名称

自動染色装置

2. 特許請求の範囲

(1) 細胞あるいは組織の染色に必要な各工程を所定の順序に従つて自動的に遂行する自動染色装置において、染色用容器本体の壁面に指標体を備えた染色用容器とこの染色用容器の指標体の染色濃度を測定する濃度測定手段とから成る染色濃度制御部を設けることにより構成したことを特徴とする自動染色装置。

(2) 細胞あるいは組織の染色に必要な各工程を所定の順序に従つて自動的に遂行する自動染色装置において、染色用容器本体の壁面に指標体を備えた染色用容器とこの染色用容器の指標体の染色濃度を測定する濃度測定手段との濃度測定手段における所定の染色濃度の検出信号を介して、上記染色用容器内における細胞あるいは組織の染色を停止する染色停止手段とから成る染色濃度制御部を設けること

により構成したことを特徴とする自動染色装置。

- (3) 上記染色用容器本体が培養細胞等の培養容器であることを特徴とする特許請求の範囲方1項または方2項記載の自動染色装置。
- (4) 上記指標体が培養細胞等の染色剤に感受性を備える塩化ビニル系あるいは酢酸ビニル系の台成樹脂、または上記培養細胞等に対応する細胞質膜の台成蛋白質を均一に織布あるいは樹脂した高分子膜、紙片、その他のシートであることを特徴とする特許請求の範囲方1項または方2項記載の自動染色装置。
- (5) 上記染色用容器を細胞あるいは組織の染色に必要な各工程に従つて移送する手段をベルトコンベアーにより構成したことを特徴とする特許請求の範囲方1項または方2項記載の自動染色装置。
- (6) 上記染色用容器を細胞あるいは組織の染色に必要な各工程に従つて移送する手段を、上記染色用容器を上下動自在に懸吊する支持手段

うに。あるいは細胞の中にある物質や、細胞部位が特異的に反応して染色され、特異的に標識することができるよう染色するのが大きな目的であつた。

従つて、所謂、見えるために「染まれば良い」わけであり、多少の誤差は見易いか、見難いかという事以外に問題とならなかつた。

しかし、染色した標体を一つの指標として細胞の増殖や、細胞内部の特定の物質の増減等を追跡せんとする場合には、標体の染色濃度は均一である方が判定し易いし、特に光電的に染色濃度を計測して、細胞の増殖数等のデータを客観化する場合には、染色ムラやロットムラがあつたのでは、標体・試料から得ようとすると細胞の増殖数等のデータを正確に得ることができない。

因て、大量の標体の染色性の均一化が要求されるとともに染色のための複雑な作業の簡易化並びに自動化が切望された。

かかる要望に答えて、自動染色装置が開発され、例えば、現在標体を固定するスライドグラスを染

色籠にセットした後、この染色籠を懸吊支持部に支擲せしめるとともに標体を染色固定するために要求される各処理工程、例えばオ1回のプロック図にて示す如く順次配備された染色液、固定液1、2染色液、の各液槽中に、上記染色籠を浸漬しつつ処理し、さらにこれを水洗した後、通風等の乾燥手段により乾燥することにより染色籠にセットした各スライドグラスに標体を染色固定する自動染色装置が提供されている。

しかるに、従来の自動染色装置は細胞あるいは組織の染色に必要な各工程は、例えば上記染色籠を懸吊支持した懸吊支持部をチーンコンベア等の移送手段により各処理槽かよび水洗、乾燥工程の方向へ移送する移送操作とともに懸吊支持部の上下動操作をそれぞれ予め定めた各工程に要求されるタイムスケジュールに従つて実施するものであるために、特に、染色の割合がタイマーによる割合であると、染色液の濃度や、いわみあより各染色標体のロット相互間にかかる染色ムラが生じやすく、また、処理速度、染色液の状態、細胞

あるいは組織の状態、さらには染色に先立つ、前処理の状態等の各ファクターによる染色濃度への影響をコントロールする場合に、上記装置における染色時間を上記各ファクターに対応せしめて変更する必要が生じ、実際に染色コントロールを適確に実施することは困難で、作業性にも乏しいものである。

そこで、本発明は、上記従来の自動染色装置において、実際に染色せんとする細胞あるいは組織の標標体を染色用容器本体に備えた染色用容器を使用するとともにこの標標体の染色濃度を測定する手段を介して、染色用容器内の細胞あるいは組織の経時的な染色状態を把握するとともに該標定手段における染色濃度が所定値に達した時点で染色を停止する手段を介して、即ち、染色濃度を介して染色処理を制御することのできる染色濃度制御部を設けることによつて、上記従来の自動染色装置の欠点を解消せんとするものである。

以下には、本発明自動染色装置の実施例を図面とともに説明する。

先ず、染色用容器としての細胞の生育するシャーレ20を矢印1方向に搬送するベルトコンベアー21を搬置するとともに、このベルトコンベアー21に沿つて1～10の処理装置を配列かつ収容する。

また、シャーレ20の盤面には指標体22を設け、染色容器としての構成を整えるのであるが、この指標体22としては、染色せんとする細胞あるいは組織に対応せしめた指標体を選択しつつ実施するが、例えば、第6工程目の染色処理に使用する染色剤に染色される性質を備える塩化ビニル系あるいは酢酸ビニル系のプラスチックや、細胞實様の合成蛋白質を均一に散布した、あるいは固定した高分子膜や紙片等により構成した指標体を使用する。

尚、図中、1～10の各処理装置において、1a、3a、5a、7a、9aは処理液の吸引ポンプ、2a、4a、6a、8aは処理液の注入ポンプ、1b、3b、5b、7b、9bは上記吸引ポンプ、1a、3a、5a、7a、9aによ

つてシャーレ20内より吸引した処理液を廻流するための連続した廻流ピン、2b、4b、6b、8bは注入ポンプ2a、4a、6a、8aを介してシャーレ20内に注入する処理液を充填した処理液充填用ピンを示し、7の染色濃度制御部は、上記シャーレ20の指標体22の染色濃度を測定する手段としての発光ダイオード等からなる発光素子11とこれに對向して配置した受光素子12とから成る検出部13をよびこの検出信号を増幅等の処理をする信号処理回路部14。検出信号との比較回路部16、さらには所定の染色濃度の検出信号により、吸引ポンプ7aを作動させて、シャーレ20内の染色液を吸引することにより、染色を停止する手段としての吸引ポンプ7aの前部15とから構成してある。

さらに、乾燥盤管10はヒーター17aおよびファン18より構成してある。

しかし、以上の構成から成る本発明の自動染色装置について、シャーレ20に培養された細胞を染色固定する場合について説明すると、シャー

レ20を移送手段としてのベルトコンベアー21上に載置せしめて矢印1方向に移送する工程中、まず、廻流吸引装置1にて、シャーレ20内の古い培地を吸引ポンプ1aにより廻流ピン1b中に排水し、次に緩衝液注入装置2の注入ポンプ2aによりシャーレ20内に緩衝液を注入して処理するとともに次回の廻流吸引装置3において、上記緩衝液をシャーレ20内より吸引ポンプ3aを介して廻流ピン3b内に排水し、さらに固定液注入装置4により、充填用ピン4b中の固定液をシャーレ20内に注入した後、次回の固定液吸引装置5のシャーレ20の固定液を廻流ピン5b内に排水する。

その後、染色液注入装置6にて、染色液を注入ポンプ6aの作動によりシャーレ20内に必要量注入し、染色を行なう。

かかる染色工程においては、染色濃度前部7にて、シャーレ20内に注入した染色液による細胞の染色濃度を制御する。

即ち、染色液注入装置6を経たシャーレ20に

次回の染色濃度前部7に至り、上記した染色用容器としてのシャーレ20の盤面に固定した指標体22に対して検出部13の発光素子11と受光素子12をセットするとともに染色液吸引装置7aをセットする。

そして、シャーレ20内の細胞が染色液によつて染色されるのに伴い、指標体22の染色も進行し、この指標体22の染色濃度は、染色濃度測定手段としての発光素子11からの光の透過量を受光素子12にて検出しつつ測定するとともにこの受光素子12による検出信号を信号処理回路部14にて電気信号に增幅変換処理し、かつ同回路部14の比較回路部16にかける所定の染色濃度との比較を行なう。

その後、指標体22の染色が進行し、所定の濃度を上記検出部13にて検出されその検出信号が比較回路部16に予めセットした所定の染色濃度レベルに達したことを確認した時点で、出力信号を制御部15にて送出し、染色液の吸引ポンプ7aを作動させて、シャーレ20内の染色液を

吸引し、細胞の染色を停止する。

このように、染色濃度制御部7にて染色濃度をコントロールしつつ所定の染色完了したシャーレ20をベルトコンベア21にて次順の水洗水注入装置8に移送し、注入ポンプ8より水洗水を注入することによって、余分な染色液を洗い飛しさらに次順の高液吸引装置9の吸引ポンプ9より水洗水を吸引除去した後、乾燥装置10に移送し、シャーレ20を循環によつて乾燥することにより、シャーレ20内の細胞の染色固定作業を完了することができる。

尚、上記染色処理作業の工程は染色せんとする細胞あるいは組織に対応した処理装置をその工程順序に従つて配列するとともに各処理装置における処理時間が移送手段であるベルトコンベアー21との間に設定され、かつ各処理装置1～10はシャーレ20の運動に支障をきたすことがないようベルトコンベアー21に対して上下あるいは前後動自在に架設し、各処理装置1～10における処理操作に連携せしめて作動させつつ実施する。

22にセットすることができるよう構成し、上記実施例における染色濃度制御部7と同一の構成部により、同様の染色濃度のコントロールを実施することができるよう構成したオ3図示の自動染色装置に設計変更しての実施が可能である。

このオ3図示の自動染色装置の場合には、オ4図a、bの染色プログラム等に従つた処理液槽およびその他の処理部が要求されるとともに各処理液槽およびその他の処理部における必要な処理作業工程に連携せしめて、上記染色槽35を移送手段および上下動手段を介して操作する。

また、染色濃度制御部7による指標体22の染色濃度の検出およびレベル判別は上記実施と同様であるが、その染色濃度が設定レベルに達した時点における染色停止手段は、制御部16からの出力信号により、上記染色槽35を懸吊支持する支持部に装置した上下動操作部37（例えばテーンブロック）を作動せしめて、染色液槽32より染色槽35を引き上げることにより進行する。

尚オ3図中、30は緩衝液槽、31は固定液槽、

また、各処理装置は、例えば、オ4図a、bに示す細胞あるいは組織の染色プログラム等に対応せしめて構成するとともにベルトコンベアーによる移送と各処理装置にかけ、操作並びに時間等を染色プログラムの各工程に対応せしめて構成するものである。

さらに、オ2図示の実施例にかけ、各処理液の注入、吸引を各処理装置1～9にて進行する実施例を、各処理工程に必要を処理液槽30～33および乾燥室34を順次配列するとともに上記実施例にかける指標体22を設けた染色用容器としてのシャーレ20を染色槽35内に内蔵し、この染色槽35を上記各処理液槽30～33および乾燥室34の配列方向に移送手段、例えばテーンコンベアー36に対して懸吊支持し、かつ染色槽35を上下動自在に支持しテーンブロックあるいは伸縮自在な支持腕等によつて支持し、さらに染色液槽32に対してはオ2図示の検出部18を上下動かつ前後動自在に架設し、染色液槽32中に浸漬した染色槽35の染色用容器20の指標体

38は水洗槽を示す。

染色槽35の懸吊、移送手段は、従来公知の自動染色装置における懸吊腕との類の上下および回転操作により構成するとともに上記各処理液槽およびその他の処理部を懸吊腕の回転範囲内に配列し、かつ染色液槽に対して染色濃度制御部を構成することにより、本発明の自動染色装置を構成することができる等、オ2、3図示の実施例に限定されるものではない。

以上の説明から明らかとな通り、本発明の自動染色装置によれば染色中に染色濃度制御部によつて染色せんとする細胞あるいは組織の指標体の染色濃度を検出しつつ細胞あるいは組織の染色濃度を制御することができる。染色液の状態、細胞あるいは組織等の被染色試料の状態、温度、その他の染色条件あるいは外部要因の影響を受けることなく、常に一定の染色濃度を得ることができ。従来の自動染色装置における染色ムラ、ロットムラを解消するとともに染色濃度からのデータについても正確かつ均一性を得ることができる。

4図面の簡単な説明

方1図は従来の自動染色装置における染色工程を示すブロック図、方2図は本発明装置の各部を工程順に示した構成図、方3図は方2図とは別の実施例を示す構成図、方4図a、bは細胞および病理組織の染色プログラムを示すブロック図で、方4図aはペパニコラク染色法の一例、方4図bはヘマトキシリン、エオジン染色法の一例をそれぞれ示すものである。

- 1 - 腐液吸引装置
- 2a - 抽引ポンプ
- 1 b - 腐液ピン
- 2 - 細胞液注入装置
- 2 a - 注入ポンプ
- 2 b - 治理液充填用ピン
- 3 - 腐液吸引装置
- 3 a - 抽引ポンプ
- 3 b - 腐液ピン
- 4 - 固定液注入装置
- 4 a - 注入ポンプ

- 4 b - 治理液充填用ピン
- 5 - 固定液吸引装置
- 5 a - 抽引ポンプ
- 5 b - 腐液ピン
- 6 - 染色液注入装置
- 6 a - 注入ポンプ
- 6 b - 染色液充填用ピン
- 7 - 染色濃度制御部
- 7 0 - 染色液吸引装置
- 7 0 a - 抽引ポンプ
- 7 0 b - 腐液ピン
- 8 - 水洗水注入装置
- 8 a - 注入ポンプ
- 8 b - 水洗水充填用ピン
- 9 - 腐液吸引装置
- 9 a - 抽引ポンプ
- 9 b - 腐液ピン
- 10 - 乾燥装置
- 11 - 発光素子
- 12 - 受光素子

13 - 検出部

- 14 - 個号処理回路部
- 15 - 前臂部
- 16 - 比較回路部
- 17 - ヒーター
- 18 - フアン
- 20 - シャーレ
- 21 - ベルトコンベア
- 22 - 指導体
- 30 - 細胞液槽
- 31 - 固定液槽
- 32 - 染色液槽
- 33 - 水洗槽
- 34 - 乾燥室
- 35 - 染色籠
- 36 - テーンコンベア
- 37 - 上下動作操作部。

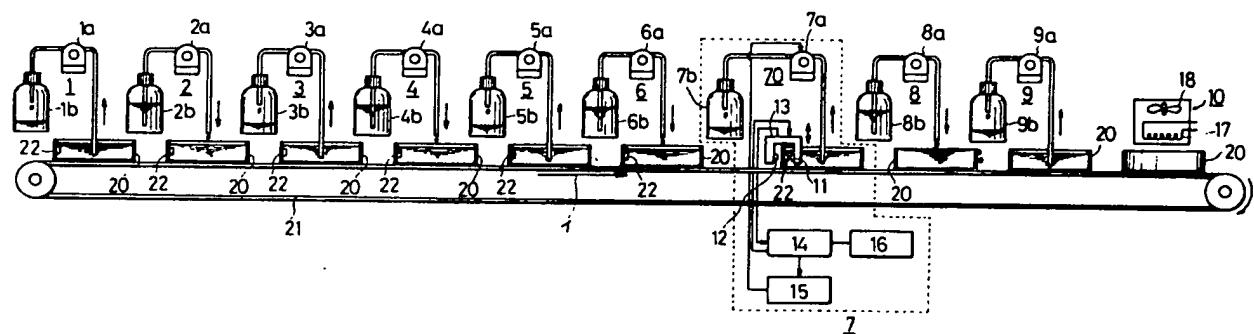
特許出願人 オリンパス光学工業株式会社

代理人弁理士 東 良 武

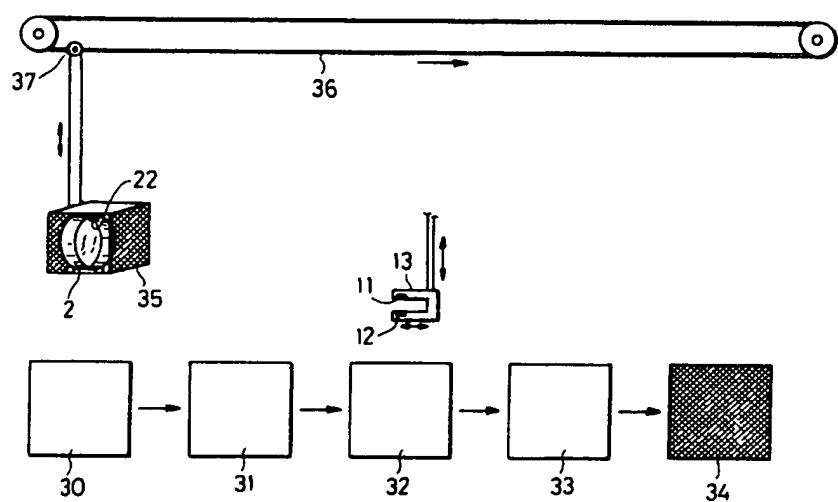
第 1 図



第 2 図

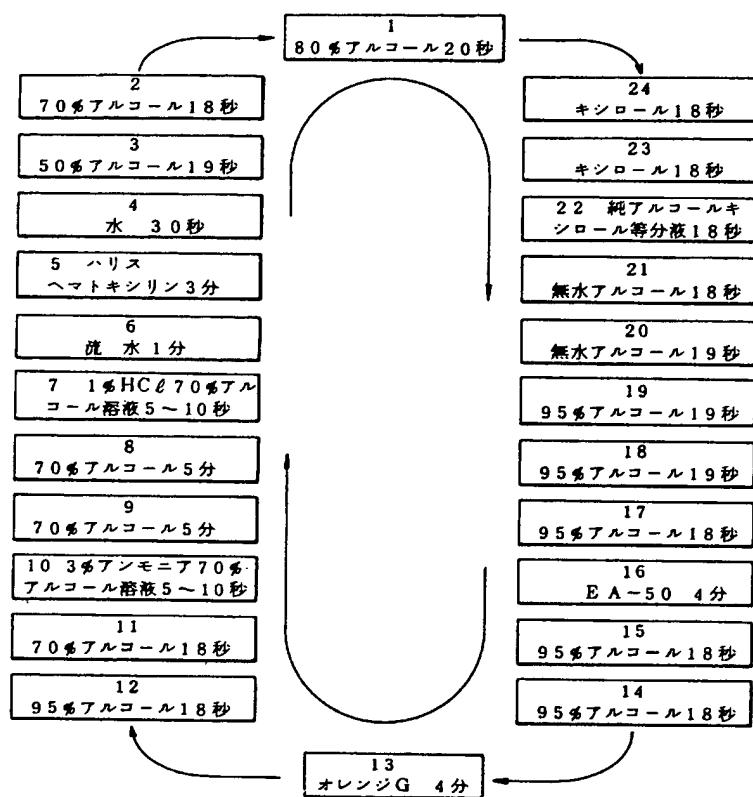


第 3 図



第4図

(a)



第4図

(b)

